

Wulansari, et al., aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Batang Sereh (*Cymbopogon citratus*) ...

Uji *in vitro* Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Batang Sereh (*Cymbopogon citratus*) terhadap *Shigella dysenteriae*

(*In vitro* Antibacterial Activity of Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) Oil against *Shigella dysenteriae*)

Yunita Wulansari, Enny Suswati, Septa Surya Wahyudi
Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Jember
Jln. Kalimantan 37, Jember 68121
e-mail: enny_suswati.fk@unej.ac.id

Abstract

Shigella dysenteriae is bacteria that caused diarrhea with high morbidity and mortality. Resistance and toxicity has reported in some antibiotics therapy towards *S. dysenteriae*. Therefore, alternative therapy based on herbal plants is needed. *Cymbopogon citratus* oil can be used as an antibacterial to *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus mutans*, all strains *Staphylococcus* sp, *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*. This study aimed to investigate antibacterial activity of *C. citratus* oils on the growth of *S. dysenteriae* and its minimum inhibitory concentration (MIC). This type of research was a quasi experimental. Antibacterial activity test performed by diffusion method. Subjects in this study were *S. dysenteriae*. *C. citratus* oil concentration used were 15 µl/ml, 20 µl/ml, 25 µl/ml, 30 µl/ml, 35 µl/ml and 40 µl/ml. Positive control group was given ciprofloxacin 5 µl/ml and a negative control group was given tween-80. Inhibition zone was observed at a concentration of 25 µl/ml (P3). The MIC of *C. citratus* oils against *S. dysenteriae* was at a concentration of 25 µl/ml. Kruskal Wallis analysis showed that $p=0.000$ and $\alpha=0.05$, it was revealed that there were differences between antibacterial activity among tested group with different concentration.

Keywords: *Shigella dysenteriae*, *Cymbopogon citratus* oil, antibacterial

Abstrak

Shigella dysenteriae merupakan bakteri penyebab diare dengan angka kesakitan dan kematian tinggi. Terapi antibiotik terhadap *S. dysenteriae* terjadi beberapa resistensi dan toksisitas. Oleh karena itu, diperlukan alternatif terapi berbasis tanaman obat. Minyak atsiri *Cymbopogon citratus* dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus mutans*, semua strain *Staphylococcus* sp, *Bacillus cereus*, dan *Bacillus subtilis*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* dan mengetahui konsentrasi hambat minimal (KHM). Jenis penelitian adalah *quasi experimental*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran. Subjek pada penelitian ini adalah *S. dysenteriae* yang dibiakkan pada media *Mueller Hinton*. Konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* yang digunakan adalah 15 µl/ml, 20 µl/ml, 25 µl/ml, 30 µl/ml, 35 µl/ml, dan 40 µl/ml. Kelompok kontrol positif diberikan siprofloksasin 5 µl/ml dan kelompok kontrol negatif diberikan tween-80. Zona hambat mulai terbentuk pada pemberian konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* 25 µl/ml (P3). Hal ini menunjukkan KHM minyak atsiri *C. citratus* terhadap *S. dysenteriae* adalah konsentrasi 25 µl/ml. Analisis Kruskal Wallis menunjukkan $p=0,000$ dan $\alpha=0,05$, hal ini mengindikasikan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antibakteri pada beberapa konsentrasi uji.

Kata kunci: *Shigella dysenteriae*, Minyak atsiri *Cymbopogon citratus*, antibakteri

Pendahuluan

Diare merupakan salah satu penyakit infeksi yang menjadi masalah kesehatan di dunia. World Health Organization (WHO) menyebutkan terjadi 1.7 juta kejadian diare di seluruh dunia [1]. Penyebab utama tingginya angka kesakitan dan kematian pada diare adalah disentri basiler [2]. Di negara berkembang, *Shigella dysenteriae* menjadi penyebab utama disentri basiler. Terapi disentri basiler dengan antibiotik berbeda di setiap daerah karena perbedaan spesies yang menginfeksi maupun adanya resistensi. Di Indonesia, terapi dengan antibiotik siprofloksasin dosis tunggal menunjukkan hasil yang baik. Namun, siprofloksasin tidak boleh diberikan kepada anak dan ibu hamil [3]. Sehingga diperlukan alternatif sebagai upaya menanggulangi resistensi dan membantu terapi pada disentri basiler.

Indonesia memiliki keanekaragaman tanaman yang dapat digunakan sebagai tanaman obat. Salah satu jenis tanaman yang dapat digunakan sebagai bahan antibakteri adalah sereh (*Cymbopogon citratus*). *C. citratus* telah digunakan sebagai obat tradisional untuk batuk, malaria, ophtalmia, pneumonia dan gangguan vaskuler. *C. citratus* juga diketahui dapat digunakan sebagai antidepresan, antioksidan, antiseptik, antibakteri, antifungi, penenang, dan sedatif.

Minyak atsiri *C. citratus* terbukti dapat digunakan sebagai antibakteri terhadap bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* dan *Klebsiella pneumonia* juga bakteri gram positif seperti *Streptococcus mutans*, semua strain *Staphylococcus sp*, *Bacillus cereus*, dan *B. subtilis* [4-5]. Kandungan minyak atsiri *C. citratus* terdiri atas geraniol (40,6%), neral (33,7%), *myrecene* (10,3%), geraniol (4,6%), dan *sesquiterpene* lainnya (8,6%) [6]. Menurut Onawunmini, senyawa aktif geraniol (alpha citral) dan neral (beta citral) yang merupakan golongan terpenoid memiliki aktivitas antibakteri [5]. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* dan mengetahui konsentrasi hambat minimal (KHM) minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae*.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Rekayasa Produksi Hasil Pertanian (RPHP) Fakultas Teknologi Pertanian

Universitas Jember untuk pembuatan minyak atsiri *C. citratus* dengan teknik destilasi uap dan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Jember sebagai tempat untuk uji aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* terhadap bakteri *S. dysenteriae*. Penelitian dilaksanakan setelah mendapatkan ethical clearance dari komisi etik Fakultas Kedokteran Universitas Jember.

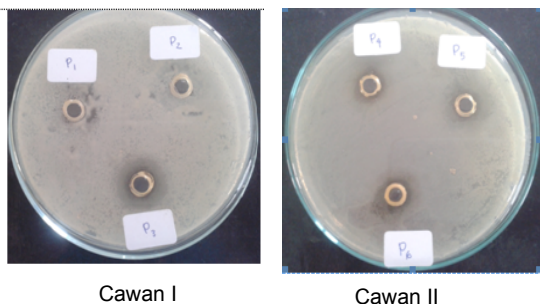
Jenis penelitian yang digunakan berupa *quasi experimental*. Uji aktivitas antibakteri dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi sumuran. Subjek pada penelitian ini adalah *S. dysenteriae* yang dibiakkan pada media MH (*Mueller Hinton*). Suspensi *S. dysenteriae* didapatkan dengan cara mengambil biakan *S. dysenteriae* menggunakan ose steril, kemudian dimasukkan dalam aquades steril hingga mencapai kekeruhan yang ekuivalen dengan 0,5 standart *Mc Farland* (setara 1×10^8 CFU/ml). Sampel kemudian dibagi menjadi beberapa kelompok.

Kelompok P1 diberikan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 15µl/ml. Kelompok P2 diberikan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 20µl/ml. Kelompok P3 diberikan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 25µl/ml. Kelompok P4 diberikan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 30µl/ml. Kelompok P5 diberikan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 35µl/ml, dan kelompok P6 diberikan minyak atsiri *C. citratus* 40µl/ml. Konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* 15µl/ml didapatkan dari 15µl minyak atsiri *C. citratus* dan ditcampurkan dalam 1 ml tween-80 demikian juga dengan konsentrasi 20µl/ml, 25µl/ml, 30µl/ml, 35µl/ml, dan 40µl/ml [7]. Kelompok kontrol positif diberikan siprofloksasin 5µl/ml dan kelompok kontrol negatif diberikan tween-80.

Analisis statistik pada penelitian ini menggunakan *Shapiro-Wilk* untuk menguji normalitas data dan uji homogenitas varians data menggunakan uji *Levene*. Selanjutnya dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis*.

Hasil Penelitian

Aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* pada media *Mueller Hinton Agar* ditunjukkan dengan terbentuknya diameter daya hambat. Diameter daya hambat ditentukan dari daerah bening disekitar sumuran media MH yang ditumbuhi bakteri *S. dysenteriae*. Minyak atsiri *C. citratus* dinyatakan mempunyai aktivitas antibakteri apabila diameter daya hambat melebihi diameter sumuran (>0,76cm).



Gambar 1. Diameter daya hambat minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro*.

Berikut data yang diperoleh setelah dilakukan penelitian dan pengamatan dari aktivitas antibakteri minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* diperoleh hasil :

Tabel 1. Hasil pengukuran diameter daya hambat minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro*

Peng ulang an	Diameter zaona hambat (cm)	K-	P1	P2	P3	P4	P5	P6	K+
I	0.76	0.76	0.76	0.82	1.1	1.15	1.2	1.78	
II	0.76	0.76	0.76	1.1	1.17	1.32	1.47	1.76	
III	0.76	0.76	0.76	1.58	1.45	1.54	1.9	1.8	
IV	0.76	0.76	0.76	1.62	1.73	1.84	1.89	2.18	
V	0.76	0.76	0.76	1.87	2.05	2.17	2.58	2.53	
Rata- rata	0.76	0.76	0.76	1.4	1.5	1.68	1.81	2.01	

Keterangan:

K(+): Kelompok kontrol positif (kontak dengan siprofloksasin 5 µl/ml)

K(-) : Kelompok kontrol negatif (kontak dengan tween-80)

P1 : Perlakuan 1 (kontak dengan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 15µl/ml)

P2: Perlakuan 2 (kontak dengan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 20µl/ml)

P3 : Perlakuan 3 (kontak dengan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 25µl/ml)

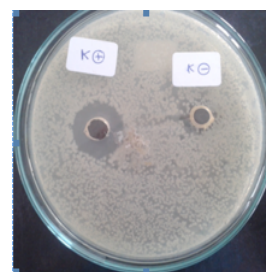
P4: Perlakuan 4 (kontak dengan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 30µl/ml)

P5: Perlakuan 5 (kontak dengan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 35µl/ml)

P6: Perlakuan 5 (kontak dengan minyak atsiri *C. citratus* konsentrasi 40µl/ml)

0,76 : Diameter sumuran

Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa minyak atsiri *C. citratus* mulai membentuk diameter daya hambat pada konsentrasi 25µl/ml (P3), 30µl/ml (P4), 35µl/ml (P5), dan 40µl/ml (P6). Namun pada konsentrasi 15µl/ml (P1) dan 20µl/ml (P2) tidak terbentuk diameter daya hambat. Rata-rata diameter daya hambat minyak atsiri *C. citratus* pada konsentrasi 25µl/ml, 30µl/ml, 35µl/ml dan 40µl/ml secara berturut-turut adalah 1,398cm,; 1,5cm; 1,675cm; dan 1,808cm. Konsentrasi hambat minimal (KHM) minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* dalam penelitian ini adalah 25µl/ml.



Gambar 2. Diameter daya hambat kontrol positif dan kontrol negatif.

Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan antibiotik siprofloksasin. Interpretasi nilai diameter daya hambat antibiotik siprofloksasin dengan konsentrasi 5µl/ml adalah, apabila diameter daya hambat <15mm, maka bakteri resisten terhadap antibiotik siprofloksasin [8]. Rata-rata diameter daya hambat antibiotik siprofloksasin terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* adalah 2,01 cm yang menandakan bahwa bakteri *S. dysenteriae* masih sensitif terhadap antibiotik siprofloksasin. Sedangkan kontrol negatif yang menggunakan tween-80 tidak terbentuk diameter daya hambat.

Berdasarkan uji *Kruskal Wallis*, dapat diketahui bahwa nilai $p=0,000$ dan nilai $\alpha=0,05$. Nilai $p<\alpha$ menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antibakteri pada beberapa konsentrasi uji. Perbedaan aktivitas antibakteri pada setiap kelompok konsentrasi dapat diketahui menggunakan uji *Post Hoc multiple comparison* dengan metode *Mann Whitney*. Dari hasil uji *Post Hoc* (tabel 2) dapat diketahui dapat

dilihat bahwa tidak ada perbedaan diameter daya hambat yang signifikan antara kelompok (K-) dengan P1 dan P2. Peningkatan konsentrasi minyak atsiri *C.citratus* dari 15µl/ml (P1) ke 20µl/ml (P2) juga tidak menunjukkan perbedaan diameter daya hambat. Diameter daya hambat mulai ada perbedaan yang bermakna pada peningkatan konsentrasi minyak atsiri *C.citratus* dari 20µl/ml (P2) ke 25µl/ml (P3). Namun pada peningkatan 25µl/ml (P3) ke 30µl/ml (P4) tidak menunjukkan adanya perbedaan diameter daya hambat. Demikian juga peningkatan konsentrasi dari 30µl/ml (P4) ke 35µl/ml (P5) dan ke 40µl/ml (P6) juga tidak menunjukkan perbedaan diameter daya hambat secara bermakna. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan konsentrasi P1, P2, P3, P4, P5, dan P6 yang rendah yaitu 5µl/ml sehingga aktivitas antibakteri yang ditimbulkan hampir sama pada kelompok P3, P4, P5, dan P6.

Kelompok (K+) dibandingkan dengan P5 dan P6 menunjukkan tidak terdapat perbedaan diameter daya hambat yang bermakna. Hal tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok 35µl/ml (P5) dan 40µl/ml (P6) memiliki aktivitas antibakteri setara dengan siprofloksasin dalam menghambat pertumbuhan *S.dysenteriae* secara *in vitro*.

Tabel 2. Hasil analisis *multiple comparison* dengan metode *Mann Whitney*

Kelompok	K(-)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	K(+)
K(-)		1,000	1,000	0,005*	0,005*	0,005*	0,005*	0,005*
P1	1,000		1,000	0,005*	0,005*	0,005*	0,005*	0,005*
P2	1,000	1,000		0,005*	0,005*	0,005*	0,005*	0,005*
P3	0,005*	0,005*	0,005*		0,675	0,602	0,175	0,047*
P4	0,005*	0,005*	0,005*	0,675		0,602	0,251	0,047*
P5	0,005*	0,005*	0,005*	0,602	0,602		0,465	0,175
P6	0,005*	0,005*	0,005*	0,175	0,251	0,465		0,754
K(+)	0,005*	0,005*	0,005*	0,047*	0,047*	0,175	0,754	

Keterangan:

* : ada perbedaan signifikan

Pembahasan

Berdasarkan tabel 1 dapat diketahui bahwa kelompok perlakuan 1 (P1) dengan pemberian konsentrasi minyak atsiri *C.citratus* 15µl/ml dan kelompok perlakuan 2 (P2) dengan pemberian konsentrasi minyak atsiri *C.citratus* 20µl/ml tidak menunjukkan diameter daya hambat. Nilai 0,76 cm pada tabel 1 merupakan diameter sumuran yang dibuat oleh peneliti. Minyak atsiri *C.citratus* mulai menghambat pertumbuhan *S.dysenteriae* pada konsentrasi 25µl/ml (P3), 30µl/ml (P4), 35µl/ml (P5), dan 40µl/ml (P6). Rata-rata diameter daya hambat yang terbentuk pada pemberian minyak atsiri *C.citratus* pada kelompok P3, P4, P5, dan P6 secara berturut sebesar 1,398cm, 1,5cm, 1,675cm, dan 1,808cm. Hal ini sesuai dengan hipotesis peneliti bahwa minyak atsiri sereh (*C. citratus*) memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S. dysenteriae* secara *in vitro*.

Kelompok kontrol positif (K+) dengan siprofloksasin yang merupakan *drug of choice* menunjukkan adanya hambatan terhadap pertumbuhan *S.dysenteriae* dengan rata-rata diameter daya hambat sebesar 2,01cm. Diameter daya hambat pada kelompok kontrol positif mengindikasikan bahwa sampel bakteri *S.dysenteriae* sensitif terhadap siprofloksasin. Kontrol negatif tidak menunjukkan diameter daya hambat sehingga tween-80 dapat digunakan sebagai pelarut minyak atsiri *C.citratus* karena tween-80 tidak mempengaruhi aktivitas antibakteri minyak atsiri *C.citratus*.

Konsentrasi hambat minimal minyak atsiri *C.citratus* terhadap pertumbuhan *S.dysenteriae* secara *in vitro* adalah pada kelompok P3. Hal ini menunjukkan bahwa *S.dysenteriae* mulai sensitif terhadap minyak atsiri *C.citratus* dengan konsentrasi 25µl/ml. *S.dysenteriae* resisten terhadap minyak atsiri *C.citratus* pada konsentrasi di bawah 25µl/ml.

Setelah didapatkan minyak atsiri *C. citratus* kemudian dibuat sediaan dalam beberapa konsentrasi dengan menambahkan pelarut tween-80. Tween-80 merupakan senyawa ester sorbitol polietilen yang berfungsi sebagai surfaktan. Surfaktan mempunyai kemampuan untuk mempengaruhi sifat permukaan karena memiliki gugus hidrofilik dan lipofilik. Gugus hidrofilik pada surfaktan bersifat polar dan mudah bersenyawa dengan air. Gugus lipofilik bersifat nonpolar dan mudah bersenyawa dengan minyak. Surfaktan dapat menurunkan tegangan permukaan dan meningkatkan laju kelarutan sehingga dapat

bercampur baik dengan minyak atsiri *C. citratus*. Tween-80 tidak memiliki sifat antifungi maupun antibakteri sehingga tidak akan mengganggu efek bahan uji yang diteliti [9].

Kelompok perlakuan yang diberikan minyak atsiri *C. citratus* akan dibandingkan dengan kelompok kontrol positif. Kontrol positif menggunakan antibiotik siprofloksasin dengan mekanisme kerja menghambat kerja enzim DNA girase (menghambat topoisomerase II dan IV) bakteri [10]. Minyak atsiri *C. citratus* yang terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.dysenteriae* karena mengandung senyawa turunan terpenoid. Komponen minyak atsiri *C. citratus* yang termasuk turunan terpenoid adalah geraniol, geranial, neral, dan α -pinene. Senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah senyawa aktif geranial (alpha citral) dan neral (beta citral) dalam minyak atsiri *C. citratus* [5]. Mekanisme kerja antibakteri minyak atsiri *C.citratus* bekerja sebagai inhibitor kompetitif enzim protease ekstraseluler bakteri sehingga tidak terbentuk protein membran sel. Kemudian terjadi lisis dinding sel bakteri dan kebocoran sitoplasma yang mengakibatkan hilangnya material sel sehingga menyebabkan kematian [9-11].

Simpulan dan Saran

Kesimpulan dari penelitian ini adalah minyak atsiri *C. citratus* memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *S.dysenteriae* secara *in vitro* dengan konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah 25 ul/ml.

Saran yang dapat diberikan yaitu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut seperti uji *in vivo*, uji toksisitas, dan juga uji klinis agar minyak atsiri *C. citratus* dapat dimanfaatkan lebih lanjut.

Daftar Pustaka

- [1] World Health Organization [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2013. [cited 2015 September 14]. Available form: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs330>
- [2] Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins Basic Pathology. 9th ed. Philadelphia : Elsevier Saunders; 2013.
- [3] Sya'roni A. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam: Disentri Basiler. Edisi V. Jakarta: Interna Publishing; 2009.
- [4] Naik MI, Fomda BA, Jaykumar E, Bhat JA. Antibacterial Activity of Lemongrass (*Chymbopogon citratus*) Oil Against Some Selected Pathogenic Bateria. Asian Pacific of Tropical Medicine. 2010. 535-538.
- [5] Almeida RBA, Akisue G, Cardoso LMM, Jenqueira JC, dan Jorge. Antimicrobial activity of the essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf. on *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus mutans* and *Candida spp.* Plantas Med. 2013. 15 (4): 474-482.
- [6] Taweekaisupapong S, Aieamsaard J, Chitropas P, Khunkitti W. Inhibitory Effect of Lemongrass Oil and its Major Constituents on *Candida* Biofilm and Germ Tube Formation. South African Journal of Botany. 2012. 95-102.
- [7] Feriyanto YE, Sipahutar PJ, Mahfud, dan Prihatini P. Pengambilan Minyak Atsiri dari Daun dan Batang Serai Wangi (*Cymbopogon winterianus*) Menggunakan Metode Distilasi Uap dan Air dengan Pemanasan Microwave. Jurnal Teknik Pomits. 2013. 2 (1): 93-97.
- [8] Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, Rohner P, Piot P, dan Heuck CC. Basic Laboratory Procedures In Clinical Bacteriology. 2nd Edition. Geneva: World Health Organization; 2003. P.120.
- [9] Dermawan, A. Polieksietilen 20 Sorbitan Monooleat (Tween 80). Sumatera: Repositori Universitas Sumatera Utara.
- [10] Setiabudy R. Golongan Kinolon dan Fluorokuinolon. In Gunawaan SG, editor. Farmakologi dan Terapi. Jakarta : Badan Penerbit FKUI; 2007. P.718-722.
- [11] Korenblum E, Goulart F, Rodrigues IA, Abreu F, Lins U, Alves PB, Blank AF, Valoni E, Sebastian GV, Alviano DS, Alviano CS, Seldin L. Antimicrobial action and anti-corrosion effect against sulfate reducing bacteria by lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil and its major component, the citral. AMB Express Springer. 2013.
- [12] Adesegun AS, Samuel FO, Olawale RG, dan Funmilola SA. Antioxidant activity of the volatile oil of *cymbopogon citratus* and its inhibition of the partially purified and characterized extracellular protease of *Shigella sonnei*. American Journal of Research Communication. 2013. 1 (1): 31-45.